

抑藻细菌 HSY-03 的分离、鉴定及对赤潮异弯藻生长的影响

傅丽君¹, 林天城¹, 余晓琪², 郑天凌²

1. 莆田学院环境与生物工程学院, 福建省新型污染物生态毒理效应与控制重点实验室, 福建 莆田 351100;

2. 厦门大学生命科学学院, 滨海湿地生态系统教育部重点实验室, 福建 厦门 361005

摘要: 从福建云霄红树林区分离筛选出一株对赤潮异弯藻(*Heterosigma akashiwo*)具有较强抑藻作用的细菌, 命名为 HSY-03。结合 16S rDNA 序列分析, 该菌与芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)同源性高达 99.0%。通过抑藻方式研究发现菌株是通过分泌胞外活性物质抑藻, 属于间接杀藻; 胞外活性物质为非多糖、非脂肪、非蛋白类化合物, 具有较好的光、热和酸碱稳定性; 对供试 13 株赤潮藻未表现出溶藻效果, 表明该菌株抑藻具有一定的种属特异性。菌株 HSY-03 抑藻效果具有浓度效应, 初始终浓度高于 5.0% 抑藻效果较好。不同生长时期菌株 HSY-03 对赤潮异弯藻均表现出较好的抑藻效果, 但菌株处于稳定期和衰亡期时抑藻效果最好。

关键词: 抑藻细菌; 赤潮; 异弯藻; 胞外活性物质

中图分类号: P735.53; S944.3+49 文献标识码: A 文章编号: 1009-5470(2016)03-0087-07

Isolation and identification of algicidal bacteria HSY-03 and its impact on *Heterosigma akashiwo*

FU Lijun¹, LIN Tiancheng¹, YU Xiaoqi², ZHENG Tianling²

1. College of Environment and Life Science, Fujian Provincial Key Laboratory of Ecology-toxicological Effects & Control for Emerging Contaminants, Putian University, Putian 351100, China;

2. Key Laboratory of Ministry of Education for Coast and Wetland Ecosystems, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China

Abstract: The bacterial strain HSY-03 is closely related to the genus *Bacillus* sp. and capable of inhibiting the toxic dinoflagellate *Heterosigma akashiwo*. It was isolated from the mangrove area in Yunxiao, Fujian Province, China. Based on 16S rRNA gene sequences and morphological characteristics, the strain HSY-03 was determined to be *Bacillus* sp. on the basis of 99.0% similarity with reference strain sequences from the NCBI. HSY-03 indirectly attacked *Heterosigma akashiwo* by secreting extracellular substances. The algicidal compounds could not be proteinaceous, nucleate and polysaccharide, which showed heat tolerant and being stable in UV as well as acidic and alkaline conditions. The bacterial strain was species-specific among the 13 algae tested. There was a close interaction between initial bacterial and algae cell densities. Bacterial HSY-03 showed strong algicidal activity when the initial concentration was above 5.0%. HSY-03 showed certain algicidal effects on *Heterosigma akashiwo* during different growth periods, especially during its stable and decline phases. These findings provided a novel viewpoint on biological control of harmful algal blooms and the relationship between the bacteria and algae.

Key words: algicidal bacteria; harmful algal blooms; *Heterosigma akashiwo*; extracellular substances

收稿日期: 2015-07-28; 修订日期: 2015-11-05。殷波编辑

基金项目: 国家自然科学基金(31400318); 福建省高校新世纪优秀人才支持计划; 福建省科技厅重点项目(2013N0030); 莆田市科技项目(2012S04)

作者简介: 傅丽君(1975—), 女, 福建省莆田市人, 博士, 教授, 主要从事环境生态学研究。E-mail: lijun_fu@sina.com

Received date: 2015-07-28; **Revised date:** 2015-11-05. Editor: YIN Bo

Foundation item: National Nature Science Foundation (31400318); New Century Excellent Talents in Fujian Province University; Key Projects of Science and Technology Department of Fujian Province (2013N0030); Science and Technology Project of Putian (2012S04)

Author: FU Lijun. E-mail: lijun_fu@sina.com

有害赤潮已成为当今全球性的海洋灾害,与沙尘暴并列由于人类活动而造成的两大自然灾害之一,严重制约社会经济的发展,破坏海洋生态环境并威胁到人类健康。赤潮异弯藻(*Heterosigma akashiwo*)属于针胞藻类(Raphidophyceae),为溶血活性的鱼毒性近岸海域广布类型藻,在日本、美国和加拿大等海域大规模爆发,给水产养殖业带来巨大损失(Shikata et al, 2008; Butron et al, 2012),在我国大连湾、渤海湾和胶州湾等海域也多次爆发(郭皓, 2004; 王年斌 等, 2006)。

目前赤潮防治的方法主要有物理法、化学法、生物法等(Anderson, 1997; Dockyu et al, 2008)。数量庞大、分布广泛、多样性丰富的微生物,已成为解决有害赤潮防治的研究热点(Luo et al, 2013; Li et al, 2014)。已报道的抑藻细菌主要有:黄杆菌属、噬胞菌属、交替假单胞菌属、葡萄球菌属、黏细菌属、芽孢杆菌属等,其中多以链霉菌属和变形菌门(Proteobacteria)中的 γ -变形菌纲为主,多为革兰阴性菌,靶藻范围涉及甲藻、蓝藻、绿藻及硅藻等(Mayali et al, 2004; Zheng et al, 2013)。

文中研究了从福建云霄红树林沉积物中分离到一株对赤潮异弯藻具抑藻作用的细菌,命名为HSY-03,采用形态学结合16S rDNA序列的方法对其进行鉴定,并探讨了菌株的抑藻方式和效果,为赤潮的微生物防治和菌藻关系研究提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 藻种及其培养

藻种:赤潮异弯藻(*Heterosigma akashiwo*)。供试的其他藻种:微绿球藻(*Nannochloropsis oculata*),亚心型扁藻(*Platymonas subcordiformis*),盐生杜氏藻(*Dunaliella salina*),青岛大扁藻(*Platymonas helgolandica*),小球藻(*Chlorella vulgaris*),中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*),新月菱形藻(*Nitzschia closterium*),奇异棍形藻(*Bacillaria paradoxa* Gmelin),三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornerutum*),球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*),东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*),翼蛭形藻(*Amphiprora alata*)均为厦门大学应用与环境微生物研究所保存藻种。

培养:藻种置于150mL三角瓶中,培养温度为 $20\pm 1^{\circ}\text{C}$,光照条件为12h光照:12h黑暗,光照强度为3000lx。

1.1.2 培养基

藻类培养用f/2培养液,细菌培养用2216E培养基(Fu et al, 2011)。

1.2 方法

1.2.1 抑藻细菌的分离及筛选

称取10g福建省云霄红树林区采集并低温保存的沉积物样品与1g CaCO_3 混合,置于90mL灭菌陈海水漩涡震荡至泥样均匀分散。吸取1mL悬浊液至1.5mL无菌离心管,于恒温振荡器上振荡2h,后进行系列梯度稀释。吸取100 μL 各梯度稀释样品涂布至2216E平板培养基 28°C 培养24~36h,用接种环挑选菌落形态不一致的细菌进行多次平板划线,进行菌株纯化。将初步纯化后的菌株接种到2216E固体培养基培养24~36h后,置于 4°C 冰箱保存备用。

将初步分离的菌株接种于装有20mL 2216E液体培养基的50mL三角瓶中,置于摇床 28°C 150r $\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下培养至指数中期。取以上菌液按5.0%的终浓度添加入到20mL处于指数生长期的赤潮异弯藻培养液中,每隔24h观察赤潮异弯藻的生长情况,选择使藻液明显变澄清的菌株作为抑藻菌株,命名为HSY-03。同时将HSY-03以5.0%终浓度添加到指数生长期的供试13株藻种中,测定菌株的抑藻谱。

抑藻率测定以每隔24h取样于48孔板,在激发波长440nm和发射波长680nm处用荧光酶标仪测定藻细胞的荧光强度,设置2个对照,以添加2216E培养基藻培养液为对照1,添加无菌f/2藻细胞培养液对照2,每处理和对照均设3组重复。

抑藻活性计算公式为:

$$\text{杀藻率}(\%) = (1 - N_t / N_c) \times 100$$

式中: N_t 为处理组的藻细胞荧光强度; N_c 为对照2的藻细胞荧光强度。

1.2.2 菌株HSY-03的鉴定

肉眼观察菌株HSY-03菌落形态。挑选对数生长期的菌株HSY-03,于菌苔上滴一滴无菌水,用灭菌牙签捣匀菌团,避免出现团块,将铜网置于液滴上进行吸附;取出铜网,向铜网上滴一滴2%磷钨酸(PTA)染色1min,后再次取出铜网进行干燥,30min后置于电镜下观察。同时将细菌进行革兰氏和芽孢染色(东秀珠 等, 2001),显微镜下观察染色结果。

菌种分子鉴定参照文献(Su et al, 2007),采用DNA通用纯化试剂盒提取细菌DNA,以27F: 5'-AGAGT TTGATCCTGGCTCAG-3'和1492R: 5'-GGTTACCT TGTTACGACTT-3'为通用引物进行PCR反应。PCR反应体系为:27F 1 μL , 1492R 1 μL , DNA 10 μL , Taq DNA聚合酶 0.5 μL , 10 \times Buffer 5 μL , dNTPs 1 μL , 加 ddH_2O 补足至50 μL 。反应条件: 94°C 预变性5min, 94°C 扩

增 1min, 55℃退火 1min, 72℃延伸 2min, 循环数 30, 在 72℃下充分延伸 8min。将 PCR 的产物送出测序, 所测得序列用 DNASTar 去除载体序列, 后将有效序列在 NCBI 上进行比对, 找出其所属的微生物种类范畴, 挑选相关序列, 用 clustalx 和 MEGA4 生物软件, 采用邻接法(neighbor-joining)构建系统发育树。

1.2.3 菌株 HSY-03 的抑藻特性

将菌株 HSY-03 接种到液体 2216E 培养基中培养 48h, 按 1.0%、3.0%、5.0%、7.0% 终浓度添加到 20mL 指数期藻培养液中, 测定不同浓度菌液对藻细胞生长的影响; 同时分别取处于延滞期(10^3 个·mL⁻¹)、对数期(10^4 个·mL⁻¹)和稳定期(10^5 个·mL⁻¹)的 HSY-03 菌液按 5.0% 的终浓度添加到 20mL 指数期藻培养液中, 测定不同生长时期菌株对藻细胞影响, 每处理重复 3 次。

1.2.4 菌株 HSY-03 抑藻性质初探

菌株 HSY-03 于 28℃ 150r·min⁻¹ 培养 24h, 5000r·min⁻¹ 离心, 上清液经 0.22μm 滤膜过滤备用。分别取终浓度为 5.0% 的细菌培养液、经滤膜滤过的离心上清液、经无菌 f/2 培养液洗涤多遍并重悬的菌体, 加入到 20mL 指数生长期赤潮异弯藻培养液中, 分别测定并计算抑藻率。

1) 酸碱适应性: 取 10mL HSY-03 无菌上清液 2 份, 测定初始 pH 值, 分别用 1mol·L⁻¹ HCL 和 NaOH 调 pH 到 3 和 11, 2h 后将 pH 值回调至初始值。以原 HSY-03 上清液为对照, 按 5.0% 终浓度进行抑藻试验。

2) 热稳定性: 取 10mL HSY-03 无菌上清液分别于 40、60、80、100、120℃ 的水浴锅中水浴 20min, 经 121℃ 高压锅灭菌 20min, 冷却至室温。以室温 HSY-03 上清液为对照, 按 5.0% 终浓度进行抑藻试验。

3) 紫外线处理: 取 10mL HSY-03 无菌上清液 3 份于灭菌空平板中, 40W 紫外灯下 20cm 距离处, 分别照射 30、90、150min。以原 HSY-03 上清液为对照, 按 5.0% 终浓度进行抑藻试验。

4) 无水乙醇沉淀: 取 30mL HSY-03 无菌上清液×5000g 离心 10min, 收集上清液与沉淀。将上清液于 45℃ 旋转蒸发浓缩至 30mL 后, 加入 3 倍体积的无水乙醇, 常温下静置 10min, 上述条件再次离心、浓缩和收集上清液与沉淀, 重复 3 次。将收集的上清液经 45℃ 旋转蒸发至干后, 用无菌 2216E 培养基溶解残留固体并定容至 30mL; 以原 HSY-03 上清液为空白对照, 分别取溶解相和沉淀相按 5.0% 终浓度进行抑藻试验。

2 结果与分析

2.1 菌株 HSY-03 生长特性

分离筛选出对赤潮异弯藻具较强抑藻作用的菌株, 命名为 HSY-03。菌株 HSY-03 在 2216E 固体培养基上 28℃ 培养 2~3d 后, 菌落呈圆形, 直径 1~2mm, 稍有隆起, 边缘微呈不规则锯齿状, 表面光滑湿润有光泽, 黄白不透明(图 1); 菌株生理生化试验测定该菌革兰氏染色呈阳性(图 2); 透射电镜下菌株为短杆状, 细胞之间常常形成链状, 有鞭毛, 细菌大小为 0.5~1.0μm × 2.0~6.0μm (图 3)。



图 1 抑藻菌株 HSY-03 平板菌落形态

Fig. 1 Clonal morphology of strain HSY-03

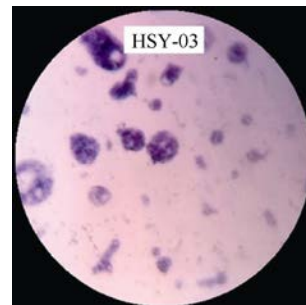


图 2 油镜下革兰氏染色的 HYS-03 菌株

Fig. 2 Gram stain of strain HSY-03

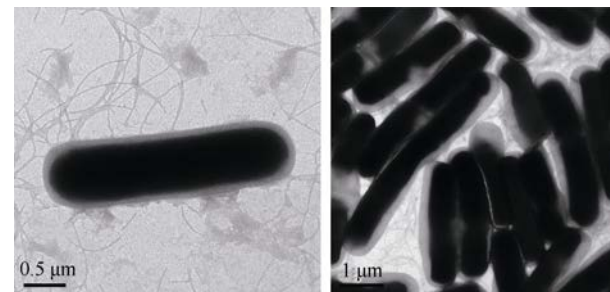


图 3 菌株 HSY-03 透射电镜图

Fig. 3 Transmission electron micrograph of strain HSY-03

由图 4 可知, 菌株 HSY-03 在 0~12h 处于生长延滞期; 16~36h 处于生长对数期, 此时细菌生长旺盛, 代谢活力最强, 菌体急剧扩增, 新物质的合成速度

最快, 对不良环境的抵抗力强; 36~40h 处于生长稳定期, 时间较短; 40h 后进入生长衰亡期, 菌体数量不断下降。通过菌株 HSY-03 对供试藻种的抑藻试验研究, 发现该菌仅对赤潮异弯藻表现出较强的抑藻活性, 表明菌株 HSY-03 的抑藻谱具有一定的种属特异性, 结果见表 1。

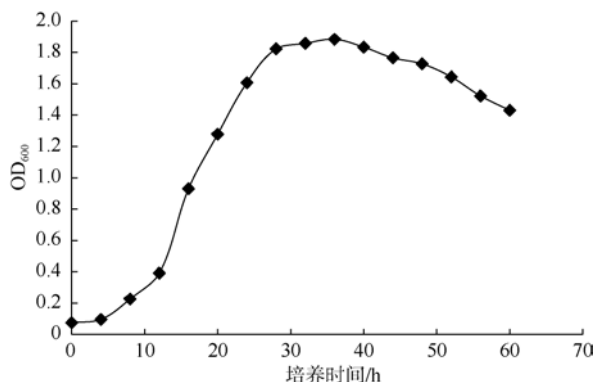


图 4 菌株 HSY-03 的生长曲线

Fig. 4 Growth curve of strain HSY-03

表 1 菌株 HSY-03 对测试藻种的抑藻活性

Tab. 1 The algicidal activity of strain HSY-03 against different tested algal species

| 供试藻种 | HSY-03 | 2216E |
|---|--------|-------|
| 微绿球藻 <i>Nannochloropsis oculata</i> | + | + |
| 亚心型扁藻 <i>Platymonas subcordiformis</i> | + | + |
| 盐生杜氏藻 <i>Dunaliella salina</i> | + | + |
| 青岛大扁藻 <i>Platymonas helgolandica</i> | + | + |
| 小球藻 <i>Chlorella vulgaris</i> | + | + |
| 中肋骨条藻 <i>Skeletonema costatum</i> | + | + |
| 新月菱形藻 <i>Nitzschia closterium</i> | + | + |
| 奇異棍形藻 <i>Bacillaria paradoxa</i> Gmelin | + | + |
| 三角褐指藻 <i>Phaeodactylum tricornutum</i> | + | + |
| 球形棕囊藻 <i>Phaeocystis globosa</i> | + | + |
| 东海原甲藻 <i>Prorocentrum donghaiense</i> | + | + |
| 翼蚕形藻 <i>Amphiprora alata</i> | + | + |
| 赤潮异弯藻 <i>Heterosigma akashiwo</i> | - | + |

注: +表示藻生长良好, -表示藻生长受抑制。

菌株 HSY-03 16S rDNA 基因经 PCR 扩增得 1.5kb 片段产物, 产物单一, 产量较高。测序后获得 16S rDNA 序列, 去除载体片段后, 将测得的序列提交至 GenBank 数据库, 用 BLAST 比对分析, 发现菌株 HSY-03 与芽孢杆菌属 *Bacillus stratosphericus* 41KF2a^T (AJ831841) 和 *Bacillus altitudinis* 41KF2b^T (ASJC01000029) 序列相似性达 99.0%, 结合菌株在平板上的菌落形态以及透射电镜下的细胞形态, 确定菌株 HSY-03 属于芽孢杆菌属 *Bacillus* sp.。构建菌株 HSY-03 系统发育树, 结果如图 5。

2.2 菌株 HSY-03 的作用方式

由图 6 可知, 菌株 HSY-03 菌液、无菌上清液处理 48h 后即表现出强抑藻效果, 抑藻率分别为 92.0% 和 90.0%, 而菌体几乎未表现出杀藻效果, 表明菌株 HSY-03 的抑藻作用不是通过菌体与藻细胞的直接接触进行杀藻, 而是通过该菌分泌的胞外活性物质进行间接杀藻。经乙醇沉淀后, 析出大量白色和褐色沉淀, 其中沉淀相含菌株发酵液中大量蛋白质、核酸、多糖等物质。但沉淀相抑藻率为 8.75%, 远低于溶解相的 71.43% 和原菌液的 80.14%。验证了菌株抑藻活性物质可能是非蛋白质、核酸和多糖类物质。由图 7 和 8 可知, 无菌上清液经酸碱、高温和紫外处理, 仍表现出较好的抑藻活性, 各组间抑藻率差异不大, 说明菌株的胞外代谢产物具有较好的酸碱稳定性、热稳定性和光稳定性。

2.3 菌株 HSY-03 的抑藻特性

不同浓度的菌株 HSY-03 上清液对赤潮异弯藻生长影响结果见图 9。由图 9 可知菌株 HSY-03 对赤潮异弯藻的抑藻效果随处理时间的延长而逐渐上升。低浓度(1.0%、3.0%)处理组, 作用 7d 后抑藻率仅为 36.4% 和 67.8%; 中浓度(5.0%)处理第 3d 抑藻率达 84.9%, 第 7d 抑藻率达 91.1%; 高浓度(7.0%)处理组作用第 3d, 抑藻率达 90% 以上。可见在一定菌液浓度范围内, HSY-03 的抑藻作用和菌液的添加量紧密相关, 添加量越大, 抑藻效果越明显。结合杀藻方式研究表明该菌在藻培养液中通过分泌杀藻活性物质杀藻, 且这种代谢物质的杀藻活性具有明显的浓度效应, 即必须达到一定浓度才能表现出杀藻作用。

为了研究菌株 HSY-03 哪个生长阶段分泌的活性物质抑藻效果最好, 取不同阶段细菌上清液, 根据菌株 HSY-03 生长曲线, 选取培养 4h、12~36h、40h、48h 分别代表延滞期、对数生长期、稳定期、衰亡期的细菌进行杀藻验证。由图 10 可知, 延滞期细菌抑藻率为 20.5%, 对数期细菌表现出一定的抑藻效果, 抑藻率在 45.3%~60.6% 之间, 稳定期细菌抑藻效果最好, 达 87.9%, 之后进入衰亡期, 抑藻效果略有下降, 仍达 75.2%, 与稳定期抑藻效果差别不显著($p>0.05$)。推测菌株 HSY-03 抑藻活性物质从对数生长期开始分泌, 但量较少, 仅表现出一定的抑藻效果, 随着菌株进入稳定期, 菌株分泌的胞外活性物质的量达最大, 抑藻作用效果明显, 之后进入衰亡期, 菌体数量减少, 胞外活性物质质量保持不变, 抑藻效果差异不大。

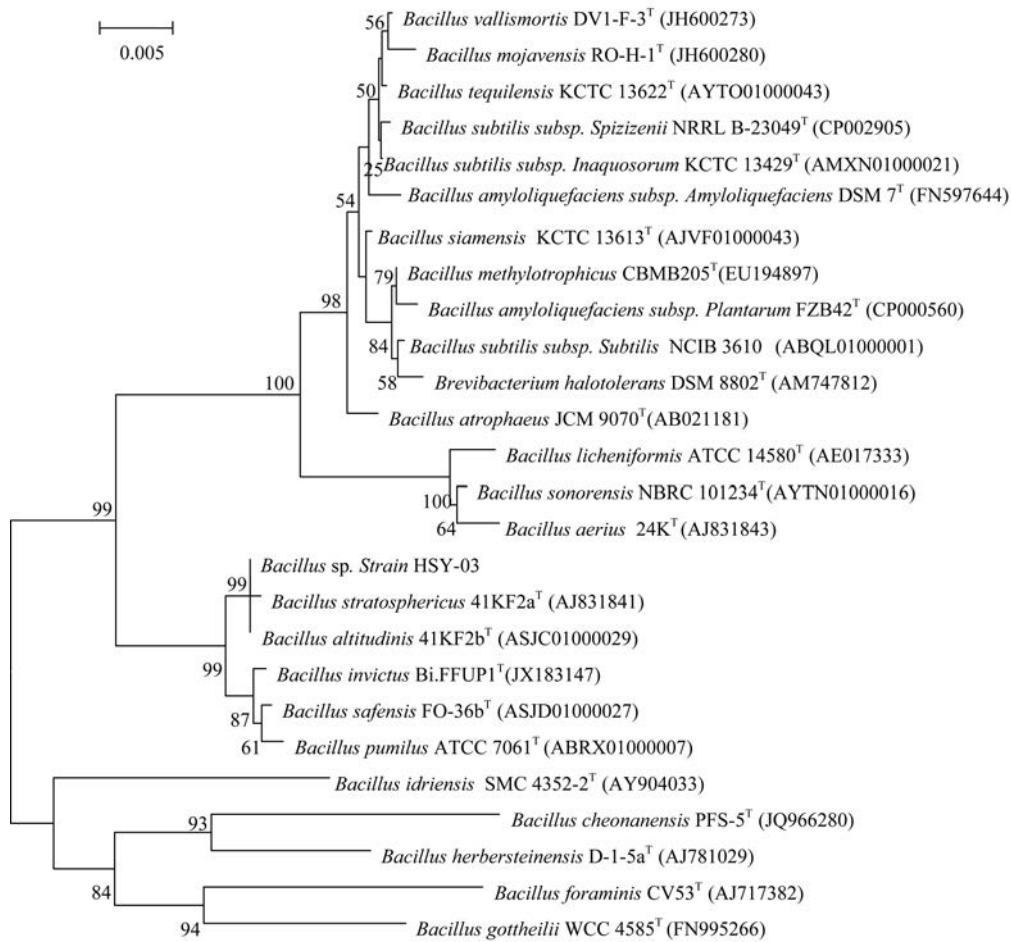


图 5 菌株 HSY-03 系统发育树
Fig. 5 Phylogenetic tree of strain HSY-03

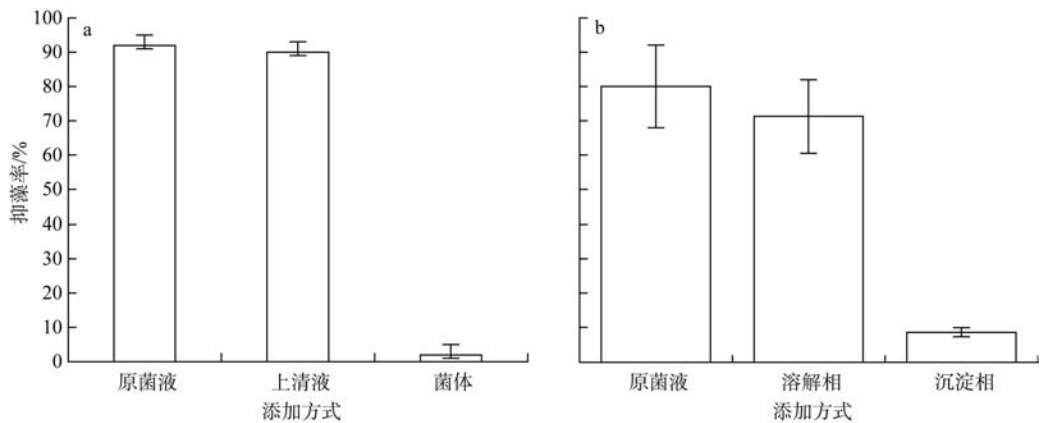


图 6 菌株 HSY-03 发酵液和乙醇沉淀后各组分及对赤潮异弯藻抑藻效果
a. HSY-03 发酵液各组分对赤潮异弯藻抑藻效果; b. HSY-03 乙醇沉淀后各组分对赤潮异弯藻抑藻效果
Fig. 6 Effects of different components of strain HSY-03 fermentation liquid (a) and ethanol precipitation (b) against *Heterosigma akashiwo*

3 小结与讨论

赤潮异弯藻作为一种鱼毒类赤潮藻, 对我国造成很大经济损失。国内外已有一些关于赤潮异弯藻抑藻细菌的报道, 如徐玲玲(2010)分离到一株能溶赤潮异弯藻的铜绿假单胞菌(*Pseudomona aeruginosa*)

F5-2, 但是属于革兰阴性菌。本研究筛选得到菌株 HSY-03 为革兰氏阳性菌, 与芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)16S rDNA 核苷酸列同源性达 99.0%以上, 归属于芽孢杆菌属。芽孢杆菌属细菌作为抑藻细菌已有报道, 如 Guan(2014)等分离一株对 *Phaeocystis globosa* 有杀藻活性的芽孢杆菌 LP-10, 但未见对赤

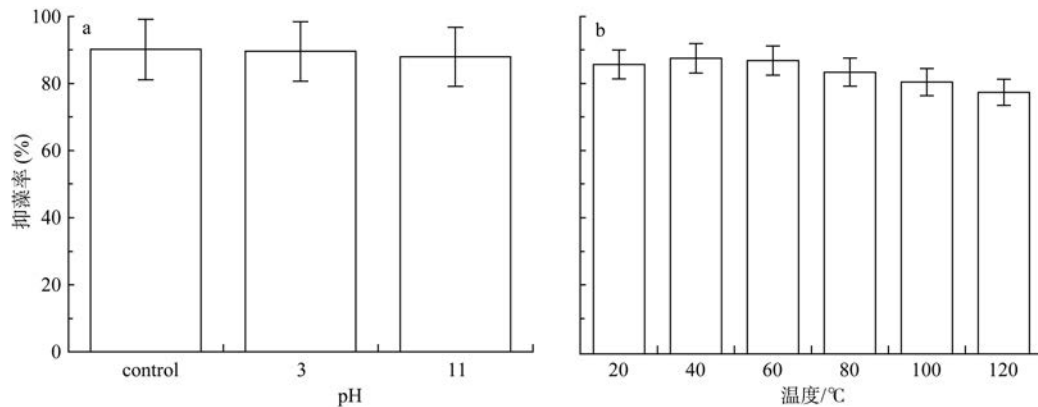


图7 不同 pH (a)、温度(b)处理对对赤潮异弯藻抑藻效果

Fig. 7 Effects of different pH values (a) and temperatures (b) treats on algal effects

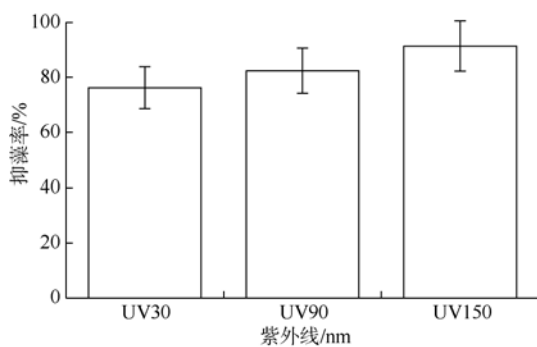


图8 不同紫外处理对对赤潮异弯藻抑藻效果

Fig. 8 Effects of different UV concentrations on algal effects

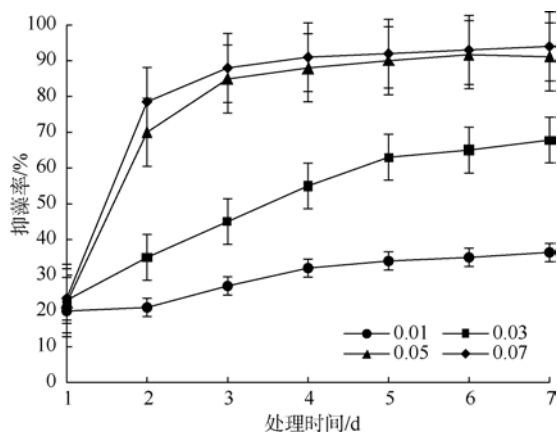


图9 HSY-03 不同浓度对赤潮异弯藻生长影响

Fig. 9 Algal activities of strain HSY-03 against *Heterosigma akashiwo* with different concentrations

潮异弯藻抑藻效应的相关报道。

多数溶藻菌多数溶藻菌是通过分泌溶解性杀藻物质杀死藻细胞，这些特异性或非特异性的胞

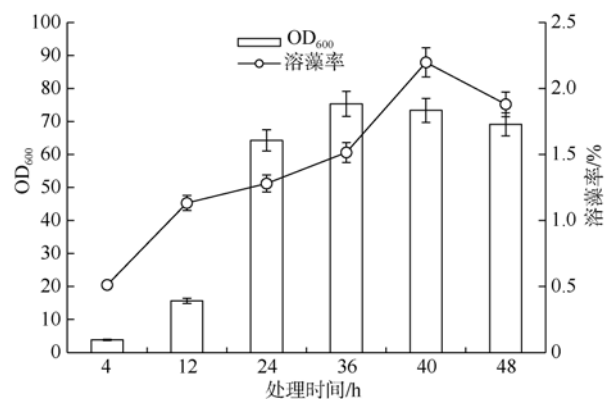


图10 HSY-03 不同生长阶段对赤潮异弯藻生长影响

Fig. 10 Influence of stain HSY-03 growth stage on *Heterosigma akashiwo*

外活性物质主要包括胞外酶、表面活性剂、抗生素等。其中以假交替单胞菌属(*Pseudoalteromonas*)和交替单胞菌属(*Alteromonas*)的溶藻菌最为常见(Mayali et al, 2004)。它们通过生长繁殖过程中所分泌蛋白质、多肽、氨基酸、抗生素或抗生素类物质实现溶藻(Wang et al, 2012; Li et al, 2015)。菌株 HSY-03通过分泌胞外活性物质杀藻，属间接杀藻。抑藻活性物质为非蛋白、多糖和脂肪类物质，且具有较强的耐酸碱、热稳定性和抗紫外能力。菌株 HSY-03表现出一定程度抑藻的菌属特异性，抑藻效应呈一定的浓度剂量效应，抑藻效率随菌液处理浓度增加而升高。同时 HSY-03防治赤潮异弯藻时，应尽量选在菌株生长的稳定期和衰亡期，此时杀藻效果最好。

参考文献 References

东秀珠, 蔡妙英, 2001. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社. DONG XIUZHU, CAI MIAOYING, 2001. Common bacterial identification manual[M]. Beijing: The Science

Publishing Company (in Chinese).

郭皓, 2004. 中国近海赤潮生物图谱[M]. 北京: 海洋出版社. GUO HAO, 2004. Illustrations of planktons responsible for

- the blooms in Chinese coastal waters[M]. Beijing: Maritime Press (in Chinese).
- 徐玲玲, 2010. 一株赤潮异弯藻溶藻细菌的分离与溶藻特性研究[D]. 武汉: 华中师范大学. XU LINGLING, 2010. Isolation and algae-lysing characteristics of the algicidal bacterium against *Heterosigma akashiwo*[D]. Wuhan: Central China Normal University (in Chinese).
- 王年斌, 周遵春, 马志强, 等, 2006. 大连湾赤潮异弯藻赤潮的多元分析[J]. 海洋学报, 28(3): 151–156. WANG NIANBIN, ZHOU ZUNCHUN, MA ZHIANGQ, et al, 2006. Analysis on multivariate statistics for *Heterosigma akashiwo* blooming in Dalian Bay[J]. Acta Oceanologica Sinica, 28(3): 151–156 (in Chinese).
- ANDERSON D M, 1997. Turning back the harmful red tide[J]. Nature, 388: 513–514.
- BUTRON A, MADARIAGA L, ORIVE E, 2012. Tolerance to high irradiance levels as a determinant of the bloom-forming *Heterosigma akashiwo* success in estuarine waters in summer[J]. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 107: 141–149.
- DOCKYU K, KIM J F, YIM J H, et al, 2008. Red to red – The marine bacterium *Hahella chejuensis* and its product prodigiosin for mitigation of harmful algal blooms[J]. Journal of Microbiology Biotechnology, 18(10): 1621–1629.
- FU LIJUN, AN XINLIN, LI DONG, et al, 2011. Isolation and alga-inhibiting characterization of *Vibrio* sp. BS02 against *Alexandrium tamarense*[J]. World Journal of Microbiology Biotechnology, 27(12): 2949–2956.
- GUAN C W, GUO X Y, CAI G J, et al, 2014. Novel algicidal evidence of a bacterium *Bacillus* sp. LP-10 killing *Phaeocystis globosa*, a harmful algal bloom causing species[J]. Biological Control, 76: 79–86.
- LI Y, ZHU H, GUAN C W, et al, 2014. Towards molecular, physiological, and biochemical understanding of photosynthetic inhibition and oxidative stress in the toxic *Alexandrium tamarense* induced by a marine bacterium[J]. Applied Microbiology Biotechnology, 98(10): 4637–4652.
- LI YI, ZHU HONG, LEI XUEQIAN, et al, 2015. The death mechanism of the harmful algal bloom species *Alexandrium tamarense* induced by algicidal bacterium *Deinococcus* sp.Y35[J]. Frontiers in Microbiology, 6(992): 1–15.
- LUO J, WANG Y, TANG S. et al, 2013. Isolation and identification of algicidal compound from streptomycetes and algicidal mechanism to *Microcystis aeruginosa*[J]. PLoS One, 8(10): 1–14.
- MAYALI X, AZAM F, 2004. Algicidal bacteria in the sea and their impact on algal blooms[J]. Journal Eukaryotic Microbiology, 51(2): 139–144.
- SHIKATA T, NAGASOE S, MATSUBARA T, et al, 2008. Factors influencing the initiation of blooms of the raphidophyte *Heterosigma akashiwo* and the diatom *Skeletonema costatum* in a port in Japan[J]. Limnology Oceanography, 53(6): 2503–2518.
- SU J Q, YANG X R, ZHENG T L, et al, 2007. An efficient method to obtain axenic cultures of *Alexandrium tamarense* – A PSP producing dinoflagellate[J]. Journal of Microbiological Methods, 69(3): 425–430.
- WANG B X, YANG X R, ZHOU Y Y, et al, 2012. An algicidal protein produced by bacterium isolated from the Donghai Sea, China[J]. Harmful Algae, 13: 83–88.
- ZHENG XIAOWEI, ZHANG BANGZHOU, ZHANG JINLONG, et al, 2013. A marine algicidal actinomycete and its active substance against the harmful algal bloom species *Phaeocystis globosa*[J]. Applied Microbiology Biotechnology, 97(20): 9207–9215.